

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：32202

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2013～2017

課題番号：25118008

研究課題名(和文)共感性の神経内分泌制御

研究課題名(英文)Neuroendocrine control of empathetic systems

研究代表者

尾仲 達史(Onaka, Tatsushi)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：90177254

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 79,200,000円

研究成果の概要(和文)：共感性の基盤となる社会記憶に、新規に見出したオキシトシン系(視索上核樹状突起-内側扁桃体経路)が伝達することを見出した。さらに、社会的敗北姿勢の表出と社会的敗北暴露動物に対する慰め様行動時にオキシトシン系が活性化されオキシトシン系が両方の行動に促進的に働くことを見出した。しかし、2つの行動で働くオキシトシン回路は異なっていることが示唆された。また、快の接触と遊び行動でもオキシトシン系が活性化され、社会行動を修飾していることを見出された。さらに、イヌ-ヒト間の絆形成にもオキシトシン系が促進的に働くことが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Roles of oxytocin-oxytocin receptor systems in the control of empathetic behaviors were investigated. We found that supraoptic oxytocin neurons extend their dendrites into the medial amygdala and that this dendritic oxytocin system mediates social recognition. We also found that distinct oxytocin systems facilitate both expression of social defeat postures and consolidation-like behaviors. Affective touches or playing behaviors were also found to activate oxytocin neurons in the hypothalamus, and to modulate development of social behaviors. We also found that oxytocin facilitates bonding between humans and dogs.

研究分野：生理学

キーワード：共感 オキシトシン

1. 研究開始当初の背景

群れを形成する動物は、同じ群れに属する他個体の情動状態を理解し、自身も同じような情動状態になることが知られている。この反応は、捕食者が出現した時など、危機的状況の時、自身でその危険を直接感知するよりも前に周囲の他個体の情動状態から危険が来そうなことを察し準備ができるという意味で適応的であると考えられる。

一方、親しい他個体が快の情動状態の場合、自身も快となることがある。この反応は群れの形成維持に寄与すると考えられる。しかし、この親しい仲間の間においては起きる快の情動伝染については、動物実験モデルは確立していない。さらに快の情動伝染に及ぼす発達による修飾の詳細は不明である。

こういった情動伝染は親しいもの同士で起こりやすく、動物が群れを形成する有利な点のひとつと考えられている。

また、危険な状況にないときに親しい他個体が負の情動状態にあれば、その個体のストレスを宥めるような行動(慰め行動)をとることが霊長類で知られている。しかしこの行動のマウスを用いた動物モデルは確立していない。

このような情動伝染や慰め行動は共感性の基礎となるものと考えられている。しかし、その神経機構には不明な点が多い。

(1) 共感性における神経ペプチドの働き：共感性の神経機構に関し、神経ペプチドのオキシトシンが共感性を促進することを示唆するデータがヒトで報告されている。即ち、オキシトシンを投与すると情動認知の成績が向上し共感的行動が促進されると報告されている。また、共感性とオキシトシン受容体遺伝子の遺伝子多型とが関連することが指摘されている。動物実験においても、申請者はオキシトシン受容体を欠損した動物では母子間における親和的な行動が少ないこと、また、他個体に対する攻撃行動が多いこと(PNAS 2005)を明らかにした。さらに、様々な侵害的なストレスとともに快情動を惹起すると考えられる摂食により視床下部オキシトシン産生ニューロンが活性化されることを報告してきた。また、オキシトシンの作用標的であるオキシトシン受容体が、大脳皮質、大脳辺縁系、視床下部、脳幹に分布していることも報告している(J Neurosci 2009)。しかし、オキシトシン軸索投射とオキシトシン受容体分布の詳細な対応は分かっていなかった。

(2) 発達期における神経ペプチドの解明：一般に社会的行動は発達期の経験に影響されることが示されている。しかし、共感性に対する発達期経験による修飾の動物実験モデルは少なく、その神経機構は不明な点が多かった。

(3) イヌにおける神経ペプチドの役割：イヌは飼い主との間に共感的な関係性が築かれることが示唆されていたが、共感性構築に関与する機構は不明であった。

2. 研究の目的

共感性の基盤となる社会的記憶、情動伝染、慰め様行動の動物実験モデルを構築し、構築した実験モデルを用いてオキシトシン-オキシトシン受容体系の働きを解明することが本研究の目的であった。

(1) 共感性における神経ペプチドの働き：共感性に関わる行動は見知った親しい個体間で生じやすい。そこでまず、この社会的記憶におけるオキシトシンの作用機序について検討を行った。この目的で、新たなオキシトシン-オキシトシン受容体系の探索と、視床下部局所のオキシトシン産生ニューロンの活性化と局所オキシトシン受容体の活性化と阻害とを行う実験を遂行した。

次に、快の情動伝染におけるオキシトシン系の働きを検討する目的で、まず、遊び、社会的な接触といった快刺激を加えると視床下部のオキシトシン産生ニューロンが活性化されるかを検討した。さらに、他個体が快の情動を示した時にも同様に、快の情動がもたらされオキシトシン産生ニューロンが活性化されるかを検討した。

親しい他個体が負の情動を示した時に、ヒトを含む霊長類では、負の情動を示す仲間に対し慰め様の行動を示す。そこで、この負の情動状態を示す他個体に対する行動に、オキシトシン系が関与しているかを検討した。すなわち、まず、社会的な状況で負の情動がもたらされたときにオキシトシン系が活性化されるかを検討した。次に、この負の状態の動物と接した動物においても、オキシトシン系が活性化されて、ヒトと同様に慰め様行動を示すかどうかを調べた。また、オキシトシン系の関与を明らかにする目的でオキシトシン系を阻害する実験を行った。

(2) 発達期における神経ペプチドの解明：発達期に、親からの接触刺激を受けたり、仲間同士で遊び行動を行うことがその後の社会行動の発達に影響を与える可能性が示されている。一方、発達期にオキシトシン系が活性化されると社会的行動が修飾される可能性が示されている。そこで、これまで社会行動の発達に重要であることが示唆されている皮膚接触刺激と遊び行動に焦点を合わせ、まず、これらの刺激により、オキシトシン産生ニューロンが活性化されるかを検討した。次に、皮膚接触をラットに実験者が加えることで、ラットと実験者との間に親和的な関係性が構築されるのかを検討した。さらに、遊び行動に関し、他個体の遊び行動を観察させると、オキシトシン産生ニューロンが活性化され、遊び様行動が惹起されるの

かを調べた。また、離乳後に隔離し遊び行動を阻害した時の社会的行動と、快の情動発声に対する行動を検討した。

(3) イヌにおける神経ペプチドの役割：イヌとヒトとの絆形成におけるオキシトシンの作用を明らかにする目的で、愛着行動時にオキシトシン分泌が促進するかを検討した。さらに、オキシトシン投与により愛着的行動が促進されるかを調べた。

3. 研究の方法

(1) 共感性における神経ペプチドの働き：齧歯動物は新奇個体に対し探索行動を示す。この探索行動を社会的記憶の指標として用いた。

脳内局所を活性化、あるいは阻害する目的で、予め脳内局所に埋め込んでおいたマイクロカニューレを用いて、アゴニスト、アンタゴニストを微量投与した。

神経活動の指標として、免疫組織化学的手法で可視化した c-Fos 蛋白質の発現を定量した。ラットは快の情動の時に 50 kHz の超音波を発声し、不快の情動の時には 22 kHz 超音波を発声する。そこで、ラットの情動状態の指標に超音波発声を用いた。ラットの発する超音波発声を超音波用マイクを用いて記録した。

社会的な負の情動を誘発させる目的で、社会的敗北刺激を与えた。社会的敗北刺激には、予め選別しておいた攻撃性の強い CD1 マウスを用いた。

オキシトシン産生ニューロンの投射とオキシトシン受容体の分布の解析には、オキシトシン産生ニューロンに選択的に Cre を発現するマウス、Cre 依存性に膜移行性 GFP を発現するための AAV ベクターの局所微量投与、オキシトシン受容体発現細胞選択的に蛍光タンパク質 Venus を発現するマウスを用いた。

(2) 発達期における神経ペプチドの解明：遊び行動は暗期に観察した。他個体の遊び行動を観察させるためには、透明で穴の開いた壁で仕切ったケージを用いた。穴あきの仕切り壁をはさんで、一方にはテストラットを入れ、もう一方には遊ぶ 2 匹の個体を入れた。壁越しに 2 匹の個体が遊び行動を示しているときのテストラットの行動を赤外線ビデオカメラで撮影し観察した。快の情動の指標としては 50 kHz 超音波発声を用いた。さらに、遊び行動中の超音波発声を録音し、超音波再生用スピーカーで再生し聞かせた時の行動を記録した。

ラットに対する快の接触刺激として、実験者がラットの体幹部をゆっくりと撫でるという刺激を行った。

(3) イヌにおける神経ペプチドの役割：イヌと飼い主の尿中のオキシトシン濃度をラジオイムノアッセイ法で測定した。また、オ

キシトシンをイヌの鼻腔内に投与しその行動を観察した。

4. 研究成果

(1) 共感性における神経ペプチドの働き：共感性の基盤となる社会記憶に、新規に見出した視索上核オキシトシン産生ニューロン樹状突起-内側扁桃体オキシトシン受容体経路が伝達していることを明らかにした。さらに、社会的敗北姿勢の表出と社会的敗北暴露動物に対する慰め様行動にオキシトシン系が不可欠であることを見出した。

社会記憶におけるオキシトシンの働き：視床下部視索上核のオキシトシン産生ニューロンが、樹状突起を内側扁桃体に伸展させていることを見出した。さらに、視索上核のオキシトシン産生ニューロンが活性化されると樹状突起からオキシトシンが放出され、内側扁桃体のオキシトシン受容体が活性化され、社会記憶が促進されることを見出した (Biological Psychiatry 2017)。内側扁桃体は、社会的なシグナルを視床下部に伝達する働きを持つ。従って、社会的シグナルにより内側扁桃体を介して視索上核のオキシトシン産生ニューロンが十分に活性化されると、逆行性にオキシトシンが内側扁桃体内で放出され内側扁桃体が賦活化され、その結果、共感性の基盤となる社会的な記憶が形成されると考えられた。

遊び行動の伝染とオキシトシン産生ニューロン：ラットは遊び行動中に、快の情動発声である 50 kHz 超音波発声を示した。壁越しに遊び行動を示しているラットがいると、隣のテストラットも遊び様行動を示した。さらに、遊び行動中に視床下部室傍核後部のオキシトシン産生ニューロンが活性化していた。即ち、ラットの遊び行動において、快の情動伝染が生じることが示唆された。

社会的敗北とオキシトシンの働き：新たなオキシトシン系回路として、視床下部室傍核オキシトシン産生ニューロン-視床下部腹内側核腹外側部オキシトシン受容体回路、視床下部室傍核オキシトシン産生ニューロン-腹外側中心灰白質オキシトシン受容体回路を見出した。社会的敗北という社会的な負の情動時に、これらの系が活性化された。さらに、社会的敗北姿勢がオキシトシン受容体欠損マウスで減弱していた。従って、オキシトシン-オキシトシン受容体系が社会的敗北ストレスの表出を促進していることが示唆された (Endocrinology 2018)。

次に、社会的敗北を受けた個体に対する行動を検討した。すなわち、2 匹の対で飼育しておき、一方のマウスに社会的敗北刺激を加えた。加えた後に、もう一匹が残っているケージに戻し入れた。ホームケージに残っていたマウスが、社会的敗北刺激を加えられ戻され

たマウスに示す行動を観察した。ホームケージにいたマウスは、社会的敗北を加えられ戻されたケージ仲間に対し、毛繕い行動を示した。齧歯動物において、毛繕いはストレス緩和作用があると考えられている。従って、社会的ストレスを加えられたケージ仲間に対する毛繕い行動は慰め様行動である可能性がある。

社会的敗北刺激を加えられたケージ仲間に対し慰め様行動を示しているときにも、オキシトシン受容体系が活性化されていた。しかし、慰め様行動中に活性化されたオキシトシン受容体系は、社会的敗北刺激で活性化される回路とは異なっていた。また、オキシトシン受容体系を阻害する実験によりオキシトシン受容体系の活性化が、ケージ仲間に対する慰め様行動の表出に促進的に働くことが明らかになった。

(2) 幼若期、思春期における神経ペプチド産生ニューロン活性化の働き：快の接触刺激を加えると視床下部のオキシトシン産生細胞が活性化されることを見出した (Neuroscience Letters 2015)。次に、快の接触が愛着関係の形成をもたらすかを明らかにする目的で、離乳後に繰り返し、快の接触刺激をラットに加えた。接触刺激を繰り返し与えられたラットは、加えた実験者に対し、追隨行動と選好行動といった愛着様行動を示した。さらに、実験者が離れると不快情動を示す 22 kHz 超音波発声を示し、実験者がいると 22 kHz 超音波発声を出さず、快情動を示す 50 kHz 超音波発声を発した。さらに、このラットは実験者が他の個体に対し快の接触刺激を加えると不快情動発声を示した。これらのデータから、ラットは妬み様行動を示す可能性が考えられた。

また、遊びを含む社会的刺激を思春期に剥離すると、他個体に対する接触行動が抑制され、快の情動発声に対する接近行動が阻害されていた。

以上から、オキシトシン神経回路を活性化させるような思春期の経験は、成熟後の他個体の快の情動表出に対する行動を変容させることが示された。

(3) 情動伝染におけるオキシトシンのイヌにおける働き：イヌ-ヒト間での見つめ合いによりオキシトシン分泌がイヌにおいてもヒトにおいても促進され、オキシトシン投与により見つめ合いが増加した。従って、見つめ合いという愛着行動とオキシトシン系の活性化との間に正のフィードバック回路があり、これがヒトとイヌの絆形成を促進していることが示唆された (Science 2015)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(下記を含む 30 件:査読有 19 件)

1. Nasanbuyan N, Yoshida M, Takayanagi Y, Inutsuka A, Nishimori K, Yamanaka A, *Onaka T. Oxytocin-oxytocin receptor systems facilitate social defeat posture in male mice. *Endocrinology* (2018) 159: 763-775. doi: 10.1210/en.2017-00606. 査読有

2. Takayanagi Y, Yoshida M, Takashima A, Takanami K, Yoshida S, Nishimori K, Nishijima I, Sakamoto H, Yamagata T, *Onaka T. Activation of supraoptic oxytocin neurons by secretin facilitates social recognition. *Biological Psychiatry* (2017) 81: 243-251. doi: 10.1016/j.biopsych.2015.11.021. 査読有

3. Okabe S, Yoshida M, Takayanagi Y, *Onaka T. Activation of hypothalamic oxytocin neurons following tactile stimuli in rats. *Neuroscience Letters* (2015) 600: 22-27. doi: 10.1016/j.neulet.2015.05.055. 査読有

4. Nagasawa M, Mitsui S, En S, Ohtani N, Ohta M, Sakuma Y, Onaka T, Mogi K, *Kikusui T: Oxytocin-gaze positive loop and the coevolution of human-dog bonds. *Science* (2015) 348: 333-336. doi: 10.1126/science.1261022. 査読有

5. Yoshida M, Takayanagi Y, *Onaka T: The medial amygdala - medullary PrRP-synthesizing neuron pathway mediates neuroendocrine responses to contextual conditioned fear in male rodents. *Endocrinology* (2014) 155: 2996-3004. doi: 10.1210/en.2013-1411. 査読有

(学会発表)(計 38 件:下記は主要な招待講演)

1. Onaka T: Roles of Oxytocin- Oxytocin Receptor Systems in the Control of Stress Responses. The Social Brain: Social Neural Networks Research Unit Kickoff Symposium. March 3, 2018. Tsukuba International Congress Center Tsukuba-city

2. 岡部祥太, 高柳友紀, 吉田匡秀, 尾仲達史: 異種間における親和的關係性構築のメカニズム解明に向けて—ラットを用いた研究—, 第 95 回日本生理学会大会、サンポートホール高松、高松シンボルタワー (香川県高松市) 2018 年 3 月 28 日~30 日。

3. 永澤美保, 小川美里, 圓史緒理, 尾仲達史, 佐久間康夫, 茂木一孝, 菊水健史: 相互注視とオキシトシン神経系を介したヒトとイヌとの絆形成、第 95 回日本生理学会大会、サンポートホール高松、高松シンボルタワー (香川県高松市) 2018 年 3 月 28 日~30 日。

4. 尾仲達史：ストレス反応と下垂体後葉ホルモン、日本臨床麻酔学会第37回大会、ザ・プリンスパークタワー東京（東京都港区）2017年11月3日～5日。

5. 尾仲達史：社会的刺激によるオキシトシンニューロンの活性化とその働き、第32回日本下垂体研究会学術集会、鬼怒川グランドホテル（栃木県日光市）2017年8月2日～4日。

6. Onaka T, Takayanagi Y, Nasanbuyan N, Yoshida M, Inutsuka A: Activation of oxytocin neurons in response to secretin administration and social defeat stress. The 12th World Congress on Neurohypophysial Hormones (WCNH 2017), Porto Real Resort (Rio de Janeiro, Brazil) 26-29 July 2017.

7. 尾仲達史：オキシトシンの多様な働きをどう理解するか？ 第14回GPCR研究会、日本科学未来館（東京都江東区）2017年5月12-13日。

8. 尾仲達史、Naranbat Nasanbuyan、吉田匡秀、高柳友紀、犬束歩：社会的敗北とオキシトシン、第27回日本行動神経内分泌研究会、牛窓研修センター・カリヨンハウス（岡山県瀬戸内市）2017年4月28-30日。

9. 尾仲達史：オキシトシンとストレス、エネルギー代謝、社会行動、第90回日本内分泌学会学術総会、ロームシアター京都・京都勧業館みやこめっせ（京都）2017年4月20-22日。

10. 高柳友紀、吉田匡秀、尾仲達史：社会行動におけるオキシトシンの働き、第122回日本解剖学会総会・全国学術集会、長崎大学坂本キャンパス（長崎）2017年3月28日～30日。

11. 吉田匡秀、高柳友紀、犬束歩、尾仲達史：遺伝子改変動物とウィルスベクターを用いたオキシトシンシステム特異的な機能調節、第94回日本生理学会大会、アクトシティ浜松（静岡県浜松市）2017年3月28-30日。

12. 尾仲達史：オキシトシンと母性行動・社会行動、第32回東京母性衛生学会学術セミナー、帝京科学大学千住キャンパス（東京）2017年2月25日。

13. 尾仲達史：オキシトシンをめぐる最近の話題、第43回日本神経内分泌学会学術集会、アクトシティ浜松 コンgressセンター（静岡県浜松市）2016年10月14日-15日。

14. 高柳友紀、尾仲達史：エネルギー代謝とストレスにおけるオキシトシンの働き、第43回日本神経内分泌学会学術集会、アクトシティ浜松 コンgressセンター（静岡県浜松市）2016年10月14日-15日。

15. 尾仲達史、高柳友紀、吉田匡秀、岡部祥太：恐怖あるいは親和的的刺激に対する神経内分泌系と行動における反応：オキシトシンの働き、第93回日本生理学会大会、札幌コンベンションセンター（北海道札幌市）2016年3月22～24日。

16. 尾仲達史：オキシトシンとストレス感受性、第9回脳・神経・内分泌系から運動の意義を考える会、岩手県民情報交流センター（盛岡市）2016年9月22日。

17. 尾仲達史：幸せホルモンとエイジング、第10回見た目のアンチエイジング研究会、東京大学伊藤国際学術研究センター（東京都文京区）2016年7月17日。

18. 高柳友紀、吉田匡秀、尾仲達史：オキシトシンによる情動・社会行動の制御、第92回日本生理学会大会、神戸国際会議場（神戸市）2015年3月21-23日。

19. 尾仲達史、吉田匡秀、高柳友紀：条件恐怖ストレスの神経内分泌反応における内側扁桃体の働き、第92回日本生理学会大会、神戸国際会議場（神戸市）2015年3月21-23日。

20. Onaka T, Yoshida M, Takayanagi Y: Lesions of vasopressin neurons by use of vasopressin-DTR transgenic rats. Satellite meeting of ICN 2014 in Sydney "Recent and Future Trends in Neuroendocrinology-from Asia and Oceania to Global" Novotel Sydney Manly Pacific (Sydney) Aug. 16, 2014.

21. Onaka T, Takayanagi Y, Yoshida M: Stress and energy metabolisms: roles of PrRP and oxytocin. The 36th Naito Conference on "Molecular Aspects of Energy Balance and Feeding Behavior" Châteraisé Gateaux Kingdom SAPPORO (Sapporo) Sep. 10-13, 2013.

22. 尾仲達史：心身ストレスとその機序、生体機能の理解にもとづく災害ストレス支援の推進事業第1回シンポジウム、野村総合研究所（東京都千代田区）2013年11月12日。

23. 尾仲達史、高柳友紀、吉田匡秀：下垂体後葉ホルモンとストレス・摂食・社会行動、創薬薬理フォーラム第21回シンポジウム、日本薬学会長井記念館（東京都渋谷区）2013年9月19-20日。

〔図書〕(計1件)

尾仲達史(2017):「ストレスを知る！」テルモ生命科学芸術財団「生命科学 DOKIDOKI 研究室」協力 『脳の神秘を探ってみよう 生命科学者21人の特別授業』(いのちの不思議を考えよう p.92-101、朝日新聞出版)

6. 研究組織

(1)研究代表者

尾仲達史 (ONAKA, Tatsushi)
自治医科大学・医学部・教授
研究者番号：90177254

(2)研究分担者

高柳友紀 (TAKAYANAGI, Yuki)
自治医科大学・医学部・講師
研究者番号：10418890

吉田 匡秀 (YOSHIDA, Masahide)
自治医科大学・医学部・助教
研究者番号：30533955

(3)連携研究者

永澤 美保 (NAGASAWA, Miho)
麻布大学・獣医学部・講師
研究者番号：70533082